

The effect of Rosa damascena Mill Hydro-alcoholic extract on the ileum contraction in rat

Mehrnoosh Sedighi¹,
Mosayeb Noori-Ahmadabadi²,
Mahmoud Rafieian-Kopaei³,
Jamshid Ebrahimipoor-Samani⁴,
Najmeh Shahinfard⁵

¹ MSc in Physiology, Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

² Student of Medicine, Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

³ Professor in Pharmacology, Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

⁴ MSc in Administration, Department of Humanities, School of Humanities, Payame Noor University, Shahrekord, Iran

⁵ Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

(Received May 8, 2013; Accepted September 1, 2013)

Abstract

Background and purpose: *Rosa damascena Mill* in Iranian folk medicine is used for treating digestive disorders. We assessed the antispasmodic effects of extract of the leaves of this plant on ileum contractions in Wistar rats; possible mechanisms were investigated, too.

Materials and methods: In this experimental study, 48 male Wistar rats (150-200 g) were divided randomly into six groups of eight members, including control group and the groups received extracts of *Rosa damascena Mill*, propranolol, naloxone, L-nitro-arginine methyl ester (L-NAME), and calcium chloride. To evaluate the effectiveness mechanisms, ileum was placed adjacent to antagonist drugs of β -adrenergic receptors, opioid and inhibitor of the synthesis of nitric oxide, and also under the influence of different doses of calcium chloride. The observed effects were recorded. Then, the percent changes were calculated. Statistical analysis was done using parametric tests of repeated measuring design, ANOVA and t tests.

Results: Cumulative extract of *Rosa damascena Mill* (100, 500 and 1000 mg/k) decreased ileum contractions induced by KCl ($P < 0.0001$). Propranolol and naloxone significantly decreased the inhibitive effect of the extract on contractions induced by KCl ($P < 0.0010$), but L-NAME was ineffective. Also, calcium led to the contraction of depolarized tissue through KCl and this contractile effect decreased significantly by the cumulative concentration of *Rosa damascena Mill* ($P < 0.0010$).

Conclusion: Extract of *Rosa damascena Mill* probably decreases ileum movements of the rat through stimulating the β -adrenergic and opioid receptors and voltage-dependent channels, and it may be used to treat digestive disorders.

Keywords: *Rosa damascena Mill*, Ileum, L-NAME, Rat

J Mazand Univ Med Sci 2014; 23(108): 30-9 (Persian).

بررسی تأثیر عصاره هیدروالکلی گل محمدی بر روی حرکات ایلئوم موش صحرایی

مهرنوش صدیقی^۱

مصیب نوری احمدآبادی^۲

محمود رفیعان کوپائی^۳

جمشید ابراهیم پور سامانی^۴

نجمه شاهین فرد^۵

چکیده

سابقه و هدف: گل محمدی، در طب سنتی ایران برای درمان بعضی از ناراحتی‌های گوارشی استفاده می‌شود. در این تحقیق، اثر ضد انقباضی عصاره هیدروالکلی گلبرگ‌های گیاه، بر انقباضات ایلئوم موش‌های صحرایی نژاد Wistar و بیان مکانیسم محتمل بر آن بررسی شد.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق مداخله‌ای، ۴۸ سر موش صحرایی، از نژاد Wistar (۱۵۰-۲۰۰ g) به شش گروه تصادفی هشت‌تایی شامل گروه شاهد، گروه دریافت‌کننده عصاره گل محمدی، پروپرانولول، نالوکسان، ال-نیم (L-NAME) و کلرور کلسیم تقسیم شدند. به منظور بررسی اثر مکانیسم ایلئوم با داروهای آنتاگونیست رسپتورهای بتا آدرنژیک، اوپیویدی و مهارکننده سنتز نیتریک اکساید، انکوبه شدند و تحت تأثیر دوزهای متفاوت کلرور کلسیم قرار گرفتند. اثرات مشاهده شده ثبت و درصد تغییرات محاسبه گردید. آنالیز آماری با آزمون‌های متغیری طرح اندازه‌گیری مکرر، ANOVA و Student t، انجام گرفت.

یافته‌ها: عصاره گل محمدی انقباضات ایلئوم ناشی از کلرور پتاسیم را کاهش داد ($P < 0/0001$). پروپرانولول و نالوکسان، اثر مهاری عصاره بر انقباضات ناشی از کلرور پتاسیم را به صورت معنی‌دار مهار نمود ($P < 0/0010$). ال-نیم بی‌اثر بود. کلسیم، سبب انقباض بافت دیپولاریزه شده توسط کلرور پتاسیم شد و این اثر انقباضی، توسط غلظت‌های تجمعی عصاره به صورت معنی‌دار کاهش یافت ($P < 0/0010$).

استنتاج: احتمال می‌رود عصاره گل محمدی، با تحریک گیرنده‌های بتا آدرنژیک و اوپیویدی و کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ، حرکات ایلئوم موش صحرایی را کم کند و می‌توان از آن به منظور درمان ناراحتی‌های گوارشی استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: گل محمدی، ایلئوم، موش صحرایی

مقدمه

با مکانیسم‌های مختلف برای درمان اسهال وجود دارند. اساس استفاده از این داروها، افزایش جذب آب و الکترولیت و غذا از روده، کاهش ترشح از روده و کاهش حرکات روده

اسهال، عامل مهم بیماری و مرگ و میر به ویژه در کشورهای جهان سوم می‌باشد (۱). داروها و ترکیبات زیادی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه دوره کارشناسی ارشد به شماره ۸۱۱ می‌باشد که با حمایت مالی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد و در مرکز تحقیقات گیاهان دارویی شهرکرد به انجام رسید.

E-mail: rafieian@yahoo.com

مؤلف مسئول: محمود رفیعان کوپائی - شهرکرد: دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی.

۱. کارشناس ارشد فیزیولوژی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

۲. دانشجوی پزشکی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

۳. استاد فارماکولوژی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

۴. کارشناس ارشد مدیریت، گروه علوم انسانی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه پیام نور شهرکرد، شهرکرد، ایران

۵. کارشناس مامایی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۲/۱۸ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۲/۴/۲۳ تاریخ تصویب: ۱۳۹۲/۶/۱۰

کوچک می‌باشد (۲). اگر چه داروهای سنتتیک مؤثری برای این منظور موجود است، اما همگی دارای عوارضی هستند که جستجو برای داروهای جدید را ضروری می‌نماید. در طب سنتی، گیاهان دارویی کاربرد فزاینده دارند (۳-۶) و با عوارض جانبی کمتری در تهیه دارو استفاده می‌شوند (۷، ۸).

گل محمدی با نام علمی *Rosa damascena* Mill از خانواده رزاسه (Rosaceae) (۹) و از جنس *Rosa* می‌باشد که در شرایط مختلف آب و هوایی کشور می‌روید. این گیاه درختچه‌ای، چند ساله، با ارتفاع نزدیک به ۱/۵ متر، دارای شاخه‌های استوانه‌ای شکل، بدون شیار و دارای گل‌های مرکب شانه‌ای، به رنگ صورتی، میوه گوشتی گرد و یا تخم مرغی است (۱۰).

این گیاه از مهم‌ترین گونه‌های معطر است که ابتدا به صورت وحشی می‌روید و هنوز هم به صورت خودرو در سوریه، مراکش و استرالیا رویش دارد (۱۱). همچنین کشت و کار آن در نقاط مختلف کشورمان از جمله مناطق غربی کشور شامل استان‌های آذربایجان شرقی، آذربایجان غربی، همدان، کرمانشاه و کردستان انجام می‌گیرد (۱۲).

ترکیبات اصلی گیاه آنتوسیانین، سیانیدین، ۳، ۵ گلیکوزید و چندین ترکیب دیگر مثل کامفرول، کوئرستین، گالاکتوزید، آرابینوزید، آفزلین، سیترونلول، لینالول، ژرانیول و ترپن‌ها می‌باشند (۱۳). فرآورده‌های گیاهان جنس *Rosa* در طب سنتی اثرات فارماکولوژیکی فراوانی دارند. از خواص دارویی ترکیب‌های فلاونویدی کامفرول و کوئرستین، مقابله با ویروس‌ها و سلول‌های سرطانی را می‌توان نام برد (۱۰).

آنتی اکسیدان‌های طبی در پیشگیری از بیماری‌های قلبی - عروقی سودمند هستند (۱۴).

کوئرستین (یکی از فلاونوئیدهای موجود در گل محمدی)، می‌تواند از انواع سرطان (مثل سرطان روده) جلوگیری (۱۵) و به کاهش فشار خون در افراد مبتلا به این بیماری کمک کند (۱۶). فلاونوئید کوئرستین در آنورث سبب شلی وابسته به آندوتلیال می‌گردد (۱۷) و در انقباض ایلئوم خو کچه هندی مؤثر است (۱۸). همچنین فلاونوئید

موجود در ریشه ختمی و دیگر گیاهان، موجب شل شدن وابسته و غیر وابسته به آندوتلیال در شریان انسانی می‌شود (۱۹).

ترکیب تتراهیدروکسی فلاونن کامفرول، که از عصاره گل محمدی به دست می‌آید، به واسطه ممانعت از فعالیت پروتئازهای ویروس ایدز، دارای خاصیت ضد ایدز می‌باشد (۲۰). همچنین عصاره گل محمدی دارای فعالیت ضد باکتری و آنتی اکسیدان است (۲۱) و باعث کاهش اسپاستیسه در کودکان فلج مغزی می‌شود (۲۲). ارزش دارویی تانن نیز به عنوان آنتی بیوتیک و اثر ضد سرطانی مشخص شده است (۲۳). اما تحقیقی در مورد اثر درمانی و چگونگی اثر گیاه بر فعالیت حرکتی ایلئوم موش صحرایی صورت نگرفته است.

در کل، فعالیت حرکتی عضله صاف تحت تأثیر عوامل عصبی، میانجی‌های شیمیایی، داروها و کشش عضله قرار دارد. این عوامل با اثر بر مکانیسم سلولی عضله، فعالیت حرکتی عضله را سبب می‌شوند. عواملی که به واسطه آن‌ها بر کانال‌های یونی عضله، هومئوستاز کلسیم و فعالیت آنزیم‌های سیتوزولی اثر می‌گذارند، فعالیت حرکتی عضله را تغییر می‌دهند (۲۴).

در تحقیقات قبلی، اثر گل نسترن از این خانواده (رزاسه) بر فعالیت انقباضی ایلئوم و اثر برون تنی گل محمدی جوشانده شده، بر فعالیت ژوژنوم موش صحرایی با اثر سودمند درمانی دوزهای استفاده شده در بیماری اسهال مشخص گردید (۲۵). همچنین صدایی و همکاران نشان دادند که عصاره هیدرو الکلی به صورت وابسته به دوز، اثرات متفاوتی بر فعالیت حرکتی ایلئوم دارد. غلظت‌های پایین عصاره ($10-100 \mu\text{g/ml}$) سبب افزایش فعالیت حرکتی روده در پاسخ به محرک‌های حرکتی *Ach* (Acetylcholine)، *KCl* (Potassium chloride) و *EFS* (Executive function system) و غلظت‌های به نسبت بالای عصاره ($1-8 \text{ mg/ml}$) سبب کاهش حرکات ایلئوم روده توسط محرک‌های *ACh*، *KCl* و *EFS* گردیده است.

این تحقیق با هدف بررسی اثر غلظت‌های تجمعی

دوز بالای عصاره هیدروالکلی گل محمدی (100 mg/kg ، 500 و 1000) بر فعالیت انقباضی ایلئوم موش صحرایی انجام شد. ایلئوم بیشتر مسئول حرکات گوارشی روده است؛ از این رو، مکانیسم مربوط با توجه به ترکیبات عصاره هیدروالکلی گل محمدی و وجود گیرنده‌ها و کانال‌های عضله صاف ایلئوم بررسی گردید (۲۶).

مواد و روش‌ها

در این مطالعه از روش ماسراسیون جهت به دست آوردن عصاره گیاه گل محمدی استفاده شد. بدین نحو که 100 گرم گلبرگ‌های گیاه گل محمدی را پس از تمیز نمودن، پودر شد و بر روی پودر حاصل اتانول 70 درصد ریخته شد. بعد از گذشت 72 ساعت، مخلوط به دست آمده به وسیله قیف بوختر صاف و محلول به دست آمده در دمای 35°C با ایجاد خلأ تبخیر گردید. محلول غلیظ شده در انکوباتور با دمای حداکثر 40°C درجه قرار داده شد تا الکل موجود در محلول به طور کامل خارج شود. از 500 g گیاه، 15 گرم پودر به دست آمد که تا زمان استفاده در یخچال نگهداری شد.

48 سر موش صحرایی نر و ماده از نژاد ویستار در محدوده وزنی $150-200 \text{ g}$ ، در شرایط روشنایی و تاریکی 12 ساعته و در دمای $24-26^\circ\text{C}$ و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند، اما شب قبل، از آزمایش از غذا محروم شدند. پروپرانول و ال-نیم از شرکت Sigma (آمریکا)، نالوکسان از شرکت تولید دارو (ایران) و کلیه نمک‌های مصرفی از شرکت Merck (آلمان) تهیه شد.

در روز آزمایش، موش‌ها با کلروفرم بی‌هوش شدند و از انتهای ایلئوم آن‌ها (به جز 2 cm آخر) یک قطعه به طول 2 cm جدا شد و در داخل حمام بافت (50 ml) حاوی محلول تیروید در بین دو قلاب استیل زنگ‌نزن به صورت عمودی قرار دادیم. قلاب پایین در ته حمام ثابت و قلاب بالا توسط نخ، به اهرم ترانس‌دیوسر ایزوتونیک (Harvard, UK) دستگاه ثبات (Universal Harvard Osillograph) متصل شد.

ترانس‌دیوسر ایزوتونیک مسئول تبدیل فعالیت مکانیکی بافت به جریان الکتریکی و انتقال آن به دستگاه ثبات و ثبت اثر روی کاغذ توسط قلم دستگاه ثبات است. دوره سازگاری 60 دقیقه که طی آن هر 15 دقیقه محلول حمام تعویض شد و جریان دایم، حباب هوا به داخل حمام دمیده شد. کشش اولیه به بافت 1 g و محلول تیروید حمام (37°C و $\text{pH} = 7.4$) بود.

بعد از سازگاری، ایلئوم توسط 0.9 cm^3 کلرور پتاسیم (60 mM) منقبض شد و هنگامی که انقباض به حالت کفه رسید (27)، غلظت‌های تجمعی عصاره (100 mg/kg ، 500 و 1000) (28) به نسبت 0.5 cm^3 به حمام بافت اضافه و درصد تغییر نیروی انقباضی نسبت به حالت کفه محاسبه شد.

در مطالعه صدرایی و همکاران (26) اثر عصاره بر فعالیت ایلئوم در دوزهای پایین ($100-10 \text{ mg/ml}$) و بررسی گردید. این جا به ترتیب دوزهای بالاتر (100 mg/kg ، 500 و 1000) بررسی گردید. این دوزها با توجه به مقاله رخشنده و همکاران (28) بررسی گردید.

محلول تیروید ترکیبی از NaCl ($136/00 \text{ mM}$)، KCl ($5/00 \text{ mM}$)، CaCl_2 ($2/00 \text{ mM}$)، NaHCO_3 ($11/90 \text{ mM}$)، MgCl_2 ($0/98 \text{ mM}$)، NaH_2PO_4 ($0/36$) و گلوکز ($5/55 \text{ mM}$) بود.

به منظور درک مکانیسم اثر عصاره بر ایلئوم، دخالت ریسپتورهای بتا آدرنرژیک، اویوئیدی و نیتریک اکساید و غلظت‌های تجمعی عصاره بر انقباض ناشی از کلروپتاسیم بررسی شد. بدین صورت، پس از 30 دقیقه انکوبه کردن بافت با پروپرانولول با غلظت $1 \text{ M}\mu$ (29)، یا نالوکسان با غلظت $1 \text{ M}\mu$ (30) و یا 20 دقیقه در غلظت $100 \text{ M}\mu$ ال-نیم (31) مراحل قبلی یعنی اضافه کردن عصاره تکرار شد.

جهت بررسی نقش کلسیم خارج سلولی در عملکرد عصاره، ابتدا بافت در محلول تایرود فاقد کلسیم و دارای غلظت زیاد کلرور پتاسیم (60 mM) قرار گرفت و کلرور کلسیم به صورت تجمعی ($2-8 \text{ mM}$) به حمام اضافه گردید (27). سپس 5 دقیقه حضور عصاره با غلظت‌های تجمعی انجام

یافته‌ها

مقایسه غلظت‌های تجمعی عصاره هیدروالکلی گلبرگ‌های گل محمدی بر انقباضات ناشی از کلرور پتاسیم در ایلئوم موش صحرایی

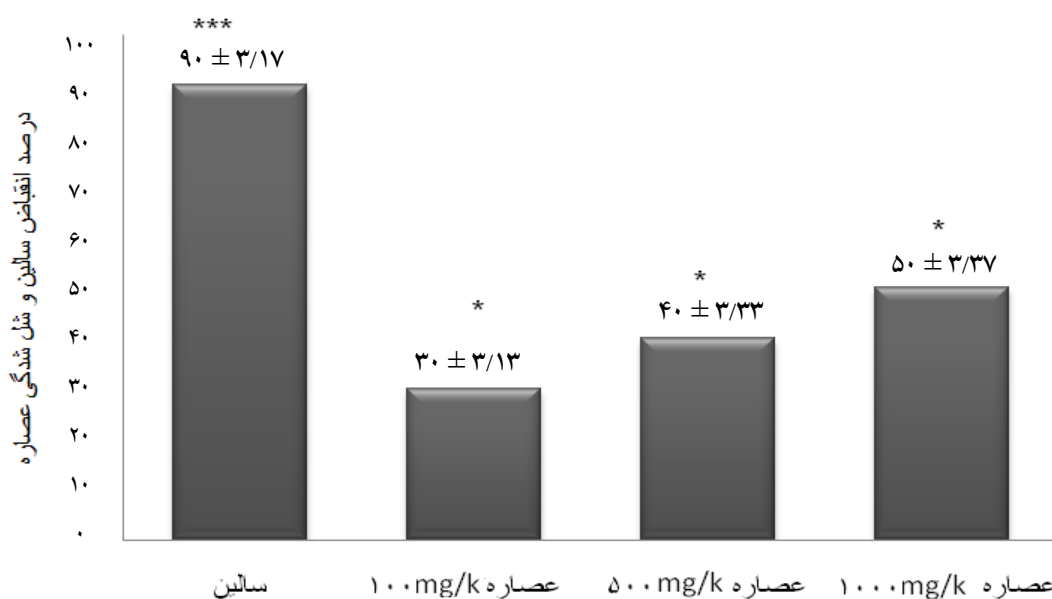
هر یک از غلظت‌های ۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ mg/kg عصاره، به طور معنی‌دار و وابسته به دوز، سبب کاهش انقباض ایلئوم ناشی از کلرور پتاسیم (۶۰ mM) در مقایسه با گروه سالین شد ($P < ۰/۰۰۰۱$).

نمودار شماره ۱ نشان می‌دهد که عصاره تجمعی گل محمدی (۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ mg/kg)، انقباضات ایلئوم ناشی از کلرور پتاسیم و سالین را مهار می‌کند ($P < ۰/۰۰۰۱$, $n = ۸$) که این اثر وابسته به دوز است. بیشترین اثر در غلظت ۱۰۰۰ mg/kg عصاره مشاهده می‌شود. همچنین اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌های مهاری عصاره دیده می‌شود ($P < ۰/۰۵۰۰$). انقباض ناشی از کلرور پتاسیم در تمام طول آزمایش حفظ می‌شد و عملکرد مهاری عصاره پس از شستشوی مکرر بافت و فاصله زمانی ۱۵ دقیقه استراحت از بین نمی‌رفت؛ که نشان دهنده اثر پایداری عصاره بر بافت است و این اثر مهاری وابسته به عصاره می‌باشد؛ نه خستگی عضلانی.

و اثر آن توسط دستگاه ثبت، روی کاغذ ثبت شد.

در تمامی مراحل انجام آزمایش فوق، اضافه کردن محلول کلرور پتاسیم (۶۰ mM) سبب افزایش انقباض ایلئوم شد و پس از مدت کوتاهی انقباض به حالت کفه می‌رسید. در این نقطه، میزان انقباض ایلئوم روی کاغذ ثبت و محاسبه می‌شد. سپس اثرات سالین و غلظت‌های تجمعی عصاره گل محمدی، همچنین اثر انکوبه کردن بافت با داروهای آنتاگونیست رستپورهای بتا آدرنرژیک (پروپرانولول ۱ Mμ)، اوپیویدی (نالوکسان ۱ Mμ) و مهار کننده سنتز نیتریک اکساید (ال-نیم ۱۰۰ μM) و تأثیر کلرور کلسیم بر کانال‌های وابسته به ولتاژ نیز ثبت و بررسی می‌شد.

اطلاعات به دست آمده از داده‌ها پس از ثبت در کامپیوتر و نرم‌افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. تغییرات نیروی انقباضی ناشی از عصاره و آنتاگونیست نسبت به عصاره، به صورت میانگین \pm انحراف معیار محاسبه گردید. به کمک آزمون آماری ANOVA جهت مقایسه غلظت‌های مختلف عصاره و از Student t جهت مقایسه دو گروه با یکدیگر استفاده گردید. $P < ۰/۰۵۰۰$ به عنوان تفاوت معنی‌دار در نظر گرفته شد.



نمودار شماره ۱: اثر غلظت‌های تجمعی عصاره گل محمدی (۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ mg/kg) بر انقباض ایلئوم ناشی از کلرور پتاسیم (۶۰ mM) و سالین ($n = ۸$, $*P < ۰/۰۰۰۱$)

* منظور این که عصاره انقباض ناشی از سالین را کاهش می‌دهد.

شدن ایلئوم می‌شود و احتمال دارد عصاره از طریق سنتز نیتریک اکساید سبب اثر مهارى حرکات ایلئوم شده باشد. بنابراین، پس از مقایسه اثر مهارى عصاره بر انقباض کلرور پتاسیم، اثر مهارى عصاره با فاصله زمانی ۱۵ دقیقه و شستشوی بافت، در حضور ۲۰ دقیقه ال-نیم، آنتاگونیست سنتز نیتریک اکساید مقایسه شد. عصاره سبب مهار انقباض کلرور پتاسیم شد ($n = 8$, $P < 0.0001$)، اما اختلاف معنی‌داری بین دو حالت عصاره در حضور و غیاب ال-نیم مشاهده نشد.

مقایسه عملکرد عصاره هیدروالکلی گلبرگ‌های گل محمدی بر انقباض ناشی از کلرور پتاسیم، قبل و بعد از انکوبه کردن ایلئوم موش با نالوکسان

نمودار شماره ۴ نشان می‌دهد، نالوکسان از طریق تأثیر بر گیرنده‌های اوپیویدی سبب شل شدن ایلئوم می‌شود (و احتمال دارد عصاره از طریق تأثیر بر گیرنده‌های اوپیویدی سبب اثر مهارى عصاره شده باشد). احتمال می‌رود مواد مؤثر عصاره، از طریق تأثیر بر گیرنده‌های اوپیویدی و بلوکه کردن کانال‌های کلسیمی سبب افزایش مهارى حرکات ایلئوم شده

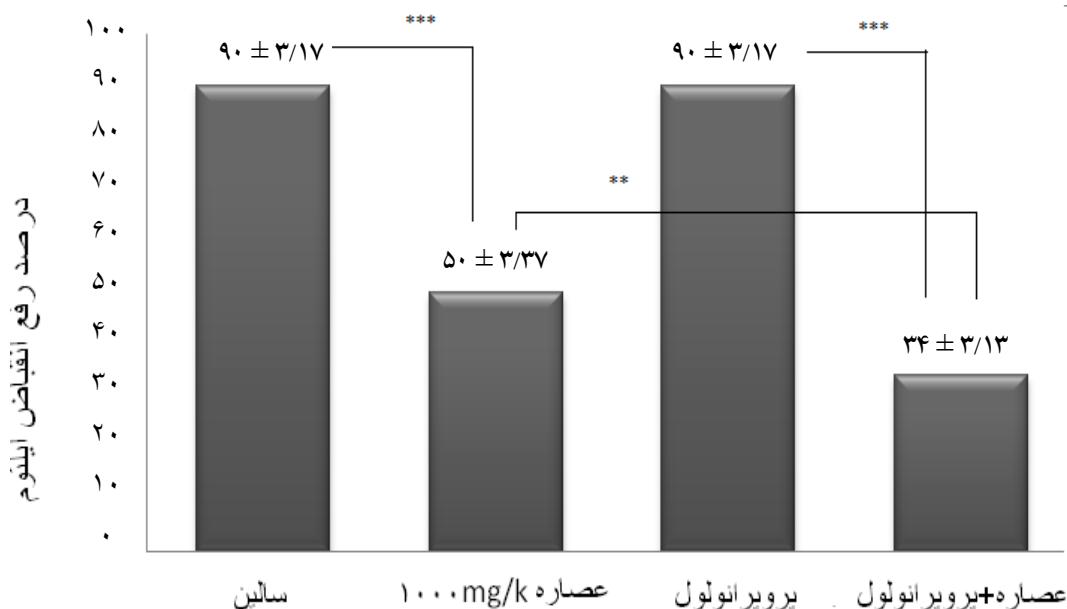
مقایسه عملکرد عصاره هیدروالکلی گلبرگ‌های گل محمدی بر انقباض ناشی از کلرور پتاسیم، قبل و بعد از انکوبه کردن ایلئوم موش با پروپرانولول

نمودار شماره ۲ نشان می‌دهد، پروپرانولول سبب شل شدن ایلئوم می‌شود و احتمال دارد مواد مؤثر در عصاره، از طریق تأثیر بر گیرنده‌های بتاآدرنژیک سبب اثر مهارى عصاره شده باشند. پس از مقایسه اثر مهارى عصاره بر انقباض کلرور پتاسیم، اثر مهارى عصاره با فاصله زمانی ۱۵ دقیقه و شستشوی بافت، در حضور ۳۰ دقیقه پروپرانولول، آنتاگونیست گیرنده‌های بتاآدرنژیک مقایسه شد.

عصاره سبب مهار انقباض کلرور پتاسیم ($P < 0.0001$) و پروپرانولول نیز سبب کاهش معنی‌دار اثر انقباض ایلئوم ناشی از عصاره شد ($n = 8$, $P < 0.0010$).

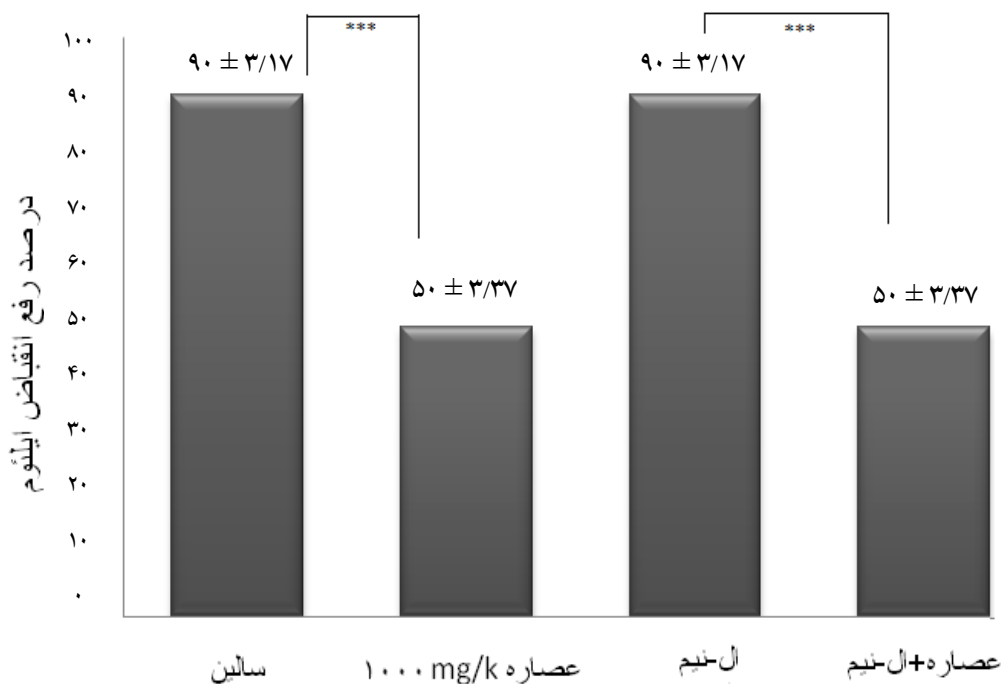
مقایسه عملکرد عصاره هیدروالکلی گلبرگ‌های گل محمدی بر انقباض ناشی از کلرور پتاسیم، قبل و بعد از انکوبه کردن ایلئوم موش با ال-نیم

نمودار شماره ۳ نشان می‌دهد، نیتریک اکساید سبب شل



نمودار شماره ۲: مقایسه اثر انقباضی کلرور پتاسیم و اثر مهارى عصاره در غلظت ۱۰۰۰ mg/kg و پروپرانولول (۱ μM) بر گیرنده‌های بتاآدرنژیک در ایلئوم ($n = 8$, $P < 0.0010$, $*** P < 0.0001$).

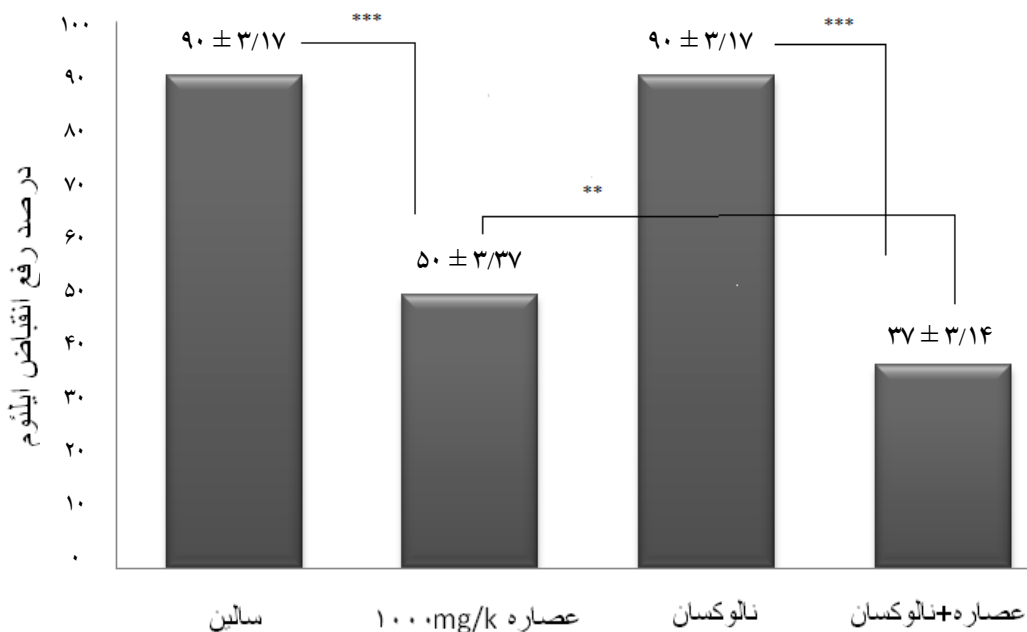
** اختلاف معنی‌دار در آزمون آماری Student t؛ *** اختلاف معنی‌دار در آزمون آماری ANOVA



نمودار شماره ۳: مقایسه اثر انقباضی کلرور پتاسیم و اثر مهاری عصاره در غلظت 1000 mg/kg و ال-نیم (100 Mμ)

مهاری کننده ستنز آنزیم نیتریک اکساید در ایلنوم (***P < 0.0001, n = 8).

*** اختلاف معنی دار در آزمون آماری ANOVA



نمودار شماره ۴: مقایسه اثر انقباضی کلرور پتاسیم و اثر مهاری عصاره در غلظت 1000 mg/kg و نالوکسان (1 Mμ) بر گیرنده‌های

اوپیوئیدی در ایلنوم (***P < 0.0001, **P < 0.001, n = 8).

** اختلاف معنی دار در آزمون آماری Student t؛ *** اختلاف معنی دار در آزمون آماری ANOVA

شستشوی بافت، در حضور ۳۰ دقیقه نالوکسان یعنی آنتاگونیست گیرنده‌های اوپیوئیدی مقایسه شد.

باشد. از این رو، پس از مقایسه اثر مهاری عصاره بر انقباض کلرور پتاسیم، اثر مهاری عصاره با فاصله زمانی ۱۵ دقیقه و

بحث

نتایج تحقیق حاضر، نشان دهنده اثر مهارى عصاره گل محمدی بر فعالیت انقباضی ایلئوم ناشی از کلرور پتاسیم بود. شستشوی بافت و تعویض محلول حمام، اثر ضد انقباضی عصاره را از بین نمی برد. بنابراین کاهش انقباض در حضور عصاره، نمی تواند ناشی از بروز خستگی عضله باشد و نتیجه اثر عصاره بر مکانیسم سلولی عضله می باشد و فعالیت حرکتی عضله را تغییر می دهد.

از آن جا که افزایش غلظت کلسیم درون سلولی، عامل اصلی تانسیون در عضله صاف می باشد، احتمال دارد عصاره حاضر، مانع از ورود کلسیم به سلول گردیده و مهار انقباض را سبب شده باشد (۲۴). با توجه به افزایش این کانال ها در غشای عضله صاف، این عضله در مقایسه با عضله اسکلتی، دارای کانال های کلسیمی وابسته به ولتاژ زیادتر و کانال های سدیمی وابسته به ولتاژ بسیار کمتری است. بنابراین اغلب، جریان یون های کلسیم از طریق کانال های آهسته کلسیمی - سدیمی به داخل فیبر، مسؤول تولید پتانسیل عمل و انقباض است. تحقیقات نشان داده اند که انقباض ناشی از کلرور پتاسیم با دخالت کانال های کلسیمی وابسته به ولتاژ انجام می شود (۳۲). این کانال های نوع L در ایلئوم موش صحرایی مشخص شده است (۳۳). از این رو به نظر می رسد در تجربه حاضر نیز ورود

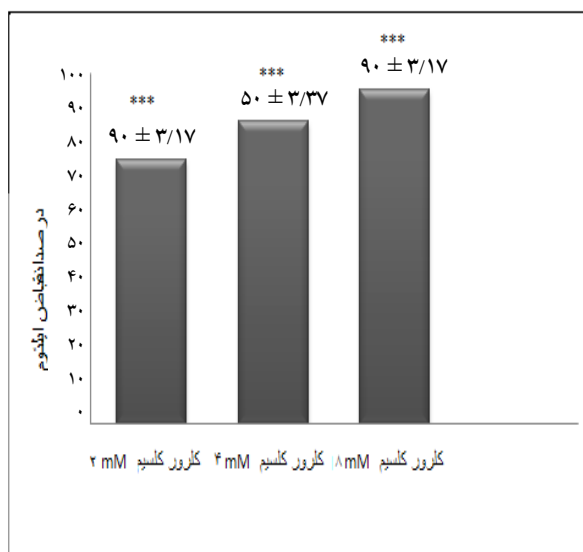
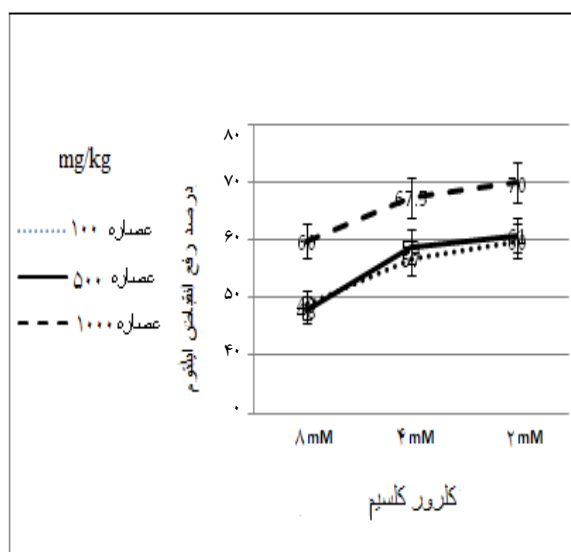
عصاره سبب مهار انقباض کلرور پتاسیم شد ($n = 8$ ، $P < 0.0001$)، نالوکسان نیز سبب کاهش معنی دار اثر مهارى انقباض ناشی از عصاره گردید ($n = 8$ ، $P < 0.0010$).

اثر عصاره هیدروالکلی برگ گل محمدی بر انقباض ناشی

از کلرور کلسیم در ایلئوم دپولاریزه شده توسط کلرور پتاسیم نمودار شماره ۵ نشان می دهد، انقباض ایلئوم ناشی از غلظت های تجمعی کلرور کلسیم (۸-۲ mM) در بافت دپولاریزه توسط کلرور پتاسیم (۶۰ mM)، وابسته به غلظت کلرور کلسیم است ($P < 0.0001$) و این پاسخ های انقباضی در حضور غلظت های تجمعی عصاره گل محمدی کاهش می یابد ($P < 0.0010$).

در محلول تایرود بدون کلسیم دارای کلرور پتاسیم (۶۰ mM) بالا، اضافه کردن غلظت های تجمعی کلرور کلسیم به حمام بافت، موجب انقباض وابسته به غلظت کلسیم در ایلئوم گردید ($n = 8$ ، $P < 0.0001$).

انکوبه کردن بافت ۳ دقیقه با غلظت های مختلف عصاره، سبب اثر مهارى انقباض ناشی از کلرور کلسیم شد که این تأثیر ضد انقباضی نیز وابسته به غلظت عصاره بود. مقایسه اثر انقباضی کلرور کلسیم در غیاب و در حضور عصاره، در تمام غلظت های کلسیم اختلاف معنی داری با هم داشتند ($n = 8$ ، $P < 0.0010$).



نمودار شماره ۵: مقایسه اثر انقباضی غلظت های تجمعی کلرور کلسیم (۸-۲ mM) و اثر مهارى عصاره در غلظت های تجمعی عصاره (۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ mg/kg)

کلسیم از این کانال‌ها توسط عصاره، دچار اختلال شده باشد. در مورد بررسی مکانیسم اثر عصاره بر فعالیت بافت، می‌توان گفت که فعال شدن گیرنده‌های اوپیوئیدی سبب شل شدن ایلئوم می‌گردد. وجود رستپورهای اوپیوئیدی نوع δ و μ و اثر مهار کنندگی آن‌ها نیز در ایلئوم موش صحرایی گزارش شده است (۳۴). فعال شدن رستپورهای بتا‌آدرنرژیک و در نهایت، افزایش cAMP (Cyclic adenosine monophosphate) و انتقال فعال کلسیم به درون شبکه سارکوپلاسمی، موجب مهار فعالیت انقباضی ایلئوم می‌گردد (۳۵).

همچنین نیتریک اکساید یکی از نورترانسمیترهای مهاری دستگاه گوارش است. این مولکول پیامبر ثانویه گازی، با فعال کردن پروتئین کینازهای وابسته به cGMP (Cyclic guanosine monophosphate) و اثر بر کانال‌های یونی و غلظت کلسیم، سبب شل شدن عضله می‌گردد (۳۶). با انکوبه کردن قطعه ایلئوم با آنتاگونیست رستپورهای اوپیوئیدی توسط نالوکسان و آنتاگونیست گیرنده‌های بتا‌آدرنرژیک توسط پروپرانولول، عملکرد شل کننده عصاره بر انقباض ایلئوم ناشی از کلرور پتاسیم کاهش یافته است که نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین دو گروه عصاره در حضور و غیاب پروپرانولول و نالوکسان است. پس می‌توان احتمال داد که مواد مؤثر عصاره از طریق تأثیر بر گیرنده‌های بتا‌آدرنرژیک و گیرنده‌های نالوکسان که وجود آن‌ها در ایلئوم ثابت شده و اثر مهاری آن‌ها نیز مشخص شده است (۳۷)، سبب ایجاد عملکرد مهاری عصاره شده باشند.

انکوبه کردن قطعه ایلئوم با آنتاگونیست سنتز نیتریک اکساید توسط داروی ال-نیم سبب شل شدن بافت ایلئوم گردید و اختلاف معنی‌داری بین دو گروه دریافت عصاره در حضور و غیاب ال-نیم مشاهده نشد که نشان دهنده عدم توانایی نیتریک اکساید بر عملکرد مهاری عصاره است.

همچنین در تحقیق حاضر، اضافه کردن کلرور کلسیم به محیط، سبب افزایش انقباض عضله شد؛ اما عصاره سبب کاهش انقباضات ناشی از کلرور کلسیم گردید. در محلول تایرود بدون کلسیم، بافت توسط مقدار زیادی از پتاسیم خارج سلولی فقط

دپولاریزه شد (۳۸) و انقباض آن مشروط به اضافه کردن کلسیم به محیط بود (۳۹). در این جا نیز انقباض ایجاد شده در عضله صاف دپولاریزه شده توسط کلرور پتاسیم وابسته به حضور کلسیم در محیط است. بعد از اضافه کردن کلرور کلسیم، بافت دپولاریزه شده توسط کلرور پتاسیم، توسط کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ موجود در عضله منقبض شده و انقباض آن وابسته به دوز است. همچنین نتایج نشان داد که غلظت‌های تجمعی عصاره، مانع از عملکرد انقباضی کلسیم در بافت دپولاریزه می‌گردد که می‌تواند نشان دهنده دخالت کانال‌های کلسیم در بروز عملکرد مهاری عصاره باشد.

خواص آنتاگونیست کلسیمی ترکیب فلاونوئیدی کوئرستین و اثر آن در شلی وابسته به آندوتلیال آئورت و کاهش فشار خون (۴۰، ۱۷، ۱۶) و در گیاه زالزالک با افزایش آزادسازی ماده گشاد کننده عروقی نیتریک اکسید (۴۱) و اثرات ضد انقباضی فلاونوئیدها در عضلات صاف جدار عروق و نیز ایلئوم (۱۸) و همچنین تأثیر شل کنندگی وابسته و غیر وابسته به آندوتلیال در جریان انسانی برای فلاونوئیدهای موجود در ریشه ختمی و دیگر گیاهان (۱۹)، تا کنون به اثبات رسیده است.

بنابراین، چون خواص آنتاگونیست کلسیمی ترکیب فلاونوئیدی کوئرستین و اثرات مهاری دیگر ترکیبات فلاونوئیدی بر عضله صاف بافت‌های دیگر ثابت شده است، می‌توان احتمال داد که خاصیت مهاری عصاره هیدرو الکلی گل محمدی به صورت وابسته به دوز و با توجه به مطالعه صدرایی و همکاران (۲۶) به دلیل اثر عمده فلاونوئیدها به ویژه کوئرستین عصاره بر کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ و دیگر فلاونوئیدها و ترکیبات گیاه بر گیرنده‌های بتا‌آدرنرژیک و اوپیوئیدی عضله و همچنین خاصیت مسهلی عصاره، دلیل بر دیگر ترکیبات گیاه به ویژه ترکیبات روغنی و اسانس گیاه باشد. البته برای تعیین مکانیسم اثر عصاره، جدا کردن تک‌تک ترکیبات گیاه و بررسی جداگانه آن‌ها بر رستپورها و دیگر عوامل حرکتی عضله لازم است.

به طور کلی، می‌توان نتیجه گرفت که عصاره هیدرو الکلی

سپاسگزاری

بدین وسیله پژوهشگران مراتب تشکر و قدردانی خود را از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد اعلام می‌دارند.

گل محمدی در غلظت‌های وابسته به دوز بر مکانیسم سلولی عضله صاف، از جمله کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ، بتآدرنژیک و اوپیوئیدی ایلنوم موش صحرایی اثر می‌گذارد و ممکن است بتوان از آن به منظور درمان ناراحتی‌های گوارشی استفاده کرد.

References

- Saffar M. Patients with acute diarrhea and how that feedback. J Mazandaran Univ Med Sci 2000; 10(28): 58-74. (Persian).
- Taylor DE, Courvalin P. Mechanisms of antibiotic resistance in *Campylobacter* species. Antimicrob Agents Chemother 1988; 32(8): 1107-12.
- Asgari.S, Rafieian-kopaei.M, Pourgheysari.B, Ansari-Samani.R, Deris.F, Shahinfard.N, et al. *Allium hirtifolium* Boiss: Radical scavenging property and the lowering effects on blood fibrinogen and factor VII. Life Science Journal 2012; 9(3): 1793-8.
- Setorki M, Nazari B, Asgary A, Azadbakht L, Rafieian-Kopaei M. Anti atherosclerotic effects of verjuice on hypocholesterolemic rabbits. Afr J Pharm Pharmacol 2011; 5(8): 1038-45.
- Jafarzadeh L, Rafieian-Kopaei M, Ansari Samani R, Asgari A. The effect of hydroalcoholic extract of *stachys lavandulifolia* vahl on pregnant mice. EXCLI Journal 2012; 11: 357-62.
- Sharafati-Chaleshtori R, Rafieian-Kopaei M, Mortezaei S, Sharafati-Chaleshtori A, Amini E. Antioxidant and antibacterial activity of the extracts of *Echinophora platyloba* D.C. Afr J Pharm Pharmacol 2012; 6(37): 2692-5.
- Ghorbani A, Ehsanpour A, Roshanzamir N, Omidvar B. Alterations in antibiotic susceptibility of urinary tract infection pathogens. J Nephropathology 2012; 1(1): 43-8.
- Khajehdehi P. Turmeric: Reemerging of a neglected Asian traditional remedy. J Nephropathology 2012; 1(1): 17-22.
- Haghi G, Hatami A. Simultaneous Quantification of Flavonoids and Phenolic Acids in Plant Materials by a Newly Developed Isocratic High-Performance Liquid Chromatography Approach. J Agric Food Chem 2010; 58(20): 10812-16.
- Middleton JE, Kandaswami C. The impact of plant flavonoids on mammalian biology implications for immunity, in flammation and cancer. In: Harborne JB, editor. The Flavonoids: Advances in Research Since 1986. London, UK: Chapman & Hall/CRC; 1999. p. 619-52.
- Chevallier A. The Encyclopedia of Medicinal Plants. London, UK: Dorling Kindersley, Limited; 1996.
- Guenther E. The essential oils. Malabar, FL: Krieger Publishing. Company Malabar; 1952. p. 506.
- Velioglu YS, Mazza G. Characterization of flavonoids in petals of *Rosa damascena* by HPLC and spectral analysis. J Agric Food Chem 1991; 39(3): 463-7.
- Kalim MD, Bhattacharyya D, Banerjee A, Chattopadhyay S. Oxidative DNA damage preventive activity and antioxidant potential of plants used in Unani system of medicine. BMC Complement Altern Med 2010; 10: 77.
- Shoskes DA, Zeitlin SI, Shahed A, Rajfer J. Quercetin in men with category III chronic prostatitis: a preliminary prospective, double-blind, placebo-controlled trial. Urology 1999; 54(6): 960-3.
- Edwards RL, Lyon T, Litwin SE, Rabovsky A, Symons JD, Jalili T. Quercetin reduces blood pressure in hypertensive subjects. J Nutr 2007; 137(11): 2405-11.
- Roghani M, Baluchnejad-Mojarad T. Endothelium-dependent and -independent vascular effect of the flavonoid quercetin in thoracic aorta of diabetic rats. Koomesh 2005; 6(3): 223-8.
- Galkin AA, Sarkisian DA, Timin EN, Khodorov BI. Effect of papaverine on the tonus and contraction of depolarized taenia coli musculature in guinea pigs. Biull Eksp Biol Med 1978; 85(2): 177-80.
- Zhang WJ, Chen BT, Wang CY, Zhu QH, Mo ZX. Mechanism of quercetin as an antidiarrheal agent. Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao 2003; 23(10): 1029-31.
- Mahmood N, Piacente S, Pizza C, Burke A, Khan AI, Hay AJ. The anti-HIV activity and mechanisms of action of pure compounds isolated from *Rosa damascena*. Biochem Biophys Res Commun 1996; 229(1): 73-9.
- Ozkan G, Sagdiç O, Baydar NG, Baydar H. Note: Antioxidant and Antibacterial Activities of *Rosa Damascena* Flower Extracts. Food Science and Technology International 2004; 10(4): 277-81.
- Rakhshandeh H, Ashraf Zadeh F, Habibollah E. Rose extract effect on muscle stiffness (spasticity) in the 2-8 year old children with cerebral palsy in children's hospital ward in Ghaem [PhD Thesis] Mashhad University of Medical Science; 2005. (Persian).

23. Perchellet JP, Gali HU, Perchellet EM, Laks PE, Bottari V, Hemingway RW, et al. Antitumor-Promoting Effects of Gallotannins, Ellagitannins, and Flavonoids in Mouse Skin In Vivo. In: Huang MT, Editor. Food phytochemicals for cancer prevention I: fruits and vegetables. Washington, DC: American Chemical Society; 1994. p. 303-27.
24. Ratz PH, Berg KM, Urban NH, Miner AS. Regulation of smooth muscle calcium sensitivity: KCl as a calcium-sensitizing stimulus. *Am J Physiol Cell Physiol* 2005; 288(4): C769-C783.
25. Mandade RJ, Choudhury A, Harsulkar A, Wakade R. Role of the *Rosa canina* L. leaf extract as an antidiarrheal drug in rodents. *Indian J Pharmacol* 2011; 43(3): 316-9.
26. Sadraei H, Asghari G, Emami S. Effect of *Rosa damascena* Mill flower extract on rat ileum. *Research in Pharmaceutical Sciences* 2013; 8(4): 277-84.
27. Sedighi M, Rafieian-kopaei M, Noori-Ahmadabadi M. Effect of *Allium ampeloprasum* on ileum function: Involvement of beta-adrenergic receptors and voltage dependent calcium channels. *Life Sci J* 2012; 9(4): 1660-7.
28. Rakhshandeh H, Dolati K, Hosseini M, Esmaili-Zadeh M. Analgesic and anti-inflammatory effects of extracts of rose (*Rosa demascena*) in mice and rats Herbal Pharmacology Research Center and Department of Pharmacology 1102296811022968. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences* 2004; 7(3): 151-6.
29. Storr M, Franck H, Saur D, Schusdziarra V, Allescher HD. Mechanisms of alpha, beta-methylene atp-induced inhibition in rat ileal smooth muscle: involvement of intracellular Ca²⁺ stores in purinergic inhibition. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2000; 27(10): 771-9.
30. Gray AC, White PJ, Coupar IM. Characterisation of opioid receptors involved in modulating circular and longitudinal muscle contraction in the rat ileum. *Br J Pharmacol* 2005; 144(5): 687-94.
31. Andersson A, Sundler F, Ekblad E. Expression and motor effects of secretin in small and large intestine of the rat. *Peptides* 2000; 21(11): 1687-94.
32. Bolton TB. Mechanisms of action of transmitters and other substances on smooth muscle. *Physiol Rev* 1979; 59(3): 606-718.
33. El BS, Lyoussi B, Wibbo M, Morel N. Comparative study of the antihypertensive activity of *Marrubium vulgare* and of the dihydropyridine calcium antagonist amlodipine in spontaneously hypertensive rat. *Clin Exp Hypertens* 2004; 26(6): 465-74.
34. Bianchi G, Ferretti P, Recchia M, Rocchetti M, Tavani A, Manara L. Morphine tissue levels and reduction of gastrointestinal transit in rats. Correlation supports primary action site in the gut. *Gastroenterology* 1983; 85(4): 852-8.
35. Van d, V, Rademaker B, Bast A. A beta adrenoceptor with atypical characteristics is involved in the relaxation of the rat small intestine. *J Pharmacol Exp Ther* 1990; 255(1): 218-26.
36. Kanada A, Hata F, Suthamnatpong N, Maehara T, Ishii T, Takeuchi T, et al. Key roles of nitric oxide and cyclic GMP in nonadrenergic and noncholinergic inhibition in rat ileum. *Eur J Pharmacol* 1992; 216(2): 287-92.
37. Borrelli F, Capasso R, Pinto A, Izzo AA. Inhibitory effect of ginger (*Zingiber officinale*) on rat ileal motility in vitro. *Life Sci* 2004; 74(23): 2889-96.
38. Fujimoto S, Mori M. Characterization of capsaicin-induced, capsazepine-insensitive relaxation of ileal smooth muscle of rats. *Eur J Pharmacol* 2004; 487(1-3): 175-82.
39. Zhang WW, Li Y, Wang XQ, Tian F, Cao H, Wang MW, et al. Effects of magnolol and honokiol derived from traditional Chinese herbal remedies on gastrointestinal movement. *World J Gastroenterol* 2005; 11(28): 4414-8.
40. Morales MA, Tortoriello J, Meckes M, Paz D, Lozoya X. Calcium-antagonist effect of quercetin and its relation with the spasmolytic properties of *Psidium guajava* L. *Arch Med Res* 1994; 25(1): 17-21.
41. Machha A, Achike FI, Mustafa AM, Mustafa MR. Quercetin, a flavonoid antioxidant, modulates endothelium-derived nitric oxide bioavailability in diabetic rat aortas. *Nitric Oxide* 2007; 16(4): 442-7.